

**PENGENDALIAN JENTIK NYAMUK VEKTOR
DEMAM BERDARAH, MALARIA DAN FILARIASIS MENGGUNAKAN STRAIN
LOKAL *BACILLUS THURINGIENSIS* H-14**

Blondine Ch.P*, Rendro Wianto* dan Sukarno*

ABSTRACT

***THE MOSQUITO LARVAE CONTROL OF DENGUE HAEMMORAGHIC FEVER,
MALARIA AND FILARIASIS VECTOR USING LOCAL STRAIN OF BACILLUS
THURINGIENSIS H-14***

A study was conducted anticipating vector control for the control of Dengue Haemmoraghic Fever (Aedes aegypti), malaria (Anopheles aconitus) and filariasis (Culex quinquefasciatus) using a local strain of Bacillus thuringiensis H-14 grown in local media (coconut water and soybean infusion). Tryptose Phosphate Broth chemical media (standard media) was used as a comparison to the media under investigation. Good growth was obtained in all media (local media and standard media) and local strain of B. thuringiensis H-14 was effective against the three mosquito larvae. The local strain of Bacillus thuringiensis H-14 cultured in coconut water media, killed 50% of the third instar larvae of Ae. aegypti, An. aconitus and Cx. quinquefasciatus at concentrations of 13×10^{-5} , 31×10^{-5} and 10×10^{-5} concentrations for 24 hours of exposure respectively and 13×10^{-5} , 9×10^{-5} and 7×10^{-5} at 48 hours exposure. Meanwhile when B. thuringiensis H-14 were cultured in soybean infusion media, they killed 50% of the third instar larvae of Ae. aegypti, An. aconitus and Cx. quinquefasciatus at concentrations of 5×10^{-5} , 7×10^{-5} and 4×10^{-5} for 24 hours of exposure respectively and 3×10^{-5} , 5×10^{-5} and 3×10^{-5} at 48 hours exposure. However when they were cultured in TPB media, they killed 50% of the third instar larvae of Ae. aegypti, An. aconitus and Cx. quinquefasciatus at concentrations of 12×10^{-5} , 15×10^{-5} and 3×10^{-5} for 24 hours of exposure respectively and 12×10^{-5} , 15×10^{-5} and 2×10^{-5} at 48 hours exposure. This investigation shows that the local strain of B. thuringiensis H-14 has potential as bioinsecticide agent.

PENDAHULUAN

Pemberantasan penyakit demam berdarah dengue (DBD) sampai saat ini hanya dilakukan dengan pengendalian vektor. Sedangkan memberantas penyakit malaria dan filariasis umumnya dilakukan dengan cara pengobatan penderita dan penyemprotan. Upaya pengendalian vektor dengan berbagai macam insektisida telah

digunakan karena efektif, aplikasinya relatif murah dan hasilnya dapat diketahui dengan cepat. Insektisida kimia di samping harganya mahal, penggunaannya secara berulang-ulang menimbulkan resistensi vektor, matinya hewan lain yang bukan sasaran dan pencemaran lingkungan. Oleh karena itu dicari cara lain untuk menanggulangi vektor penyakit. Salah satu cara yang mulai banyak diteliti, potensial

* Stasiun Penelitian Vektor Penyakit (SPVP) Salatiga, Puslit Ekologi Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan.

dan dipandang mempunyai prospek yang baik adalah penggunaan bakteri yang patogen bagi jentik nyamuk antara lain *Bacillus thuringiensis* H-14.

Bacillus thuringiensis H-14 merupakan salah satu bakteri patogen serangga yang sekarang sudah dikembangkan menjadi salah satu bioinsektisida yang patogenik terhadap jentik nyamuk dan jentik lalat hitam. Salah satu karakteristik dari *B. thuringiensis* H-14 adalah dapat memproduksi kristal protein di dalam sel bersama-sama dengan spora pada waktu sel mengalami sporulasi¹⁾.

Pada penelitian sebelum ini telah ditemukan strain lokal *Bacillus thuringiensis* H-14 yang diisolasi dari habitat tanah di laboratorium Stasiun Penelitian Vektor Penyakit²⁾. Untuk memperbanyak kristal dan spora bakteri tersebut digunakan media Tryptose Phosphate Broth (TPB) yang mahal harganya. Untuk meningkatkan produksi digunakan media alternatif seperti air kelapa dan air rendaman kedelai yang murah harganya dan dapat diperoleh setiap saat.

Penelitian penggunaan media lokal seperti terasi udang, malase dan tepung kedelai untuk memproduksi *B. thuringiensis* H-14 telah dilakukan oleh Soesanto (1992)³⁾. Begitu pula suatu penelitian yang telah dilakukan di "Alexander von Humboldt Tropical Medicine Institute" di Lima, Peru dan oleh Chilcott dan Pillai (1985) menggunakan

media kelapa untuk memproduksi *B. thuringiensis* H-14⁴⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk mengendalikan jentik nyamuk vektor demam berdarah (*Ae. aegypti*), malaria (*An. aconitus*) dan filariasis (*Cx. quinquefasciatus*) dengan menggunakan strain lokal *B. thuringiensis* H-14 yang ditumbuhkan dalam media air kelapa dan air rendaman kedelai.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Penelitian

Bacillus thuringiensis H-14 sebagai strain lokal, diperoleh dari hasil isolasi habitat tanah di laboratorium Stasiun Penelitian Vektor Penyakit. Sebelum digunakan kultur bakteri tersebut dapat dipelihara dalam media NYSMA miring dan disimpan pada suhu 4°C. Apabila akan digunakan, maka dibuat kultur baru terlebih dahulu dengan cara memindahkan kultur tersebut ke dalam media NYSMA yang baru dan diinkubasikan selama 48 jam, suhu 30°C.

Media pertumbuhan adalah media air kelapa dan air rendaman kedelai yang diperoleh dari industri tempe rumah tangga di jalan Kemiri I, Salatiga. Sebagai media standar (baku), digunakan media kimiawi Tryptose Phosphate Broth (TPB). pH ketiga media sebesar 7,3 dan disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklav sebelum digunakan. Jentik nyamuk yang digunakan adalah *Ae. aegypti*, *An. aconitus*

dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing instar III, hasil koloni laboratorium.

Pelaksanaan Penelitian

Pertumbuhan strain lokal *B. thuringiensis* H-14 pada media air kelapa, air rendaman kedelai dan TPB adalah sebagai berikut : Kultur bakteri *B. thuringiensis* H-14 yang berada pada 3 media NYSMA miring, masing-masing dipindahkan ke dalam 3 gelas Erlenmeyer berukuran 250 ml di mana masing-masing gelas Erlenmeyer telah diisi dengan 50 ml air kelapa, 50 ml air rendaman kedelai yang ditambah 2 gram glukosa dan 50 ml TPB. Masing-masing media diinkubasikan selama 24 jam, suhu 30°C. Sesudah itu digojog (shake) pada suhu kamar selama 3 hari. Penghitungan jumlah sel hidup (TVC) dan spora yang hidup (TVSC), dilakukan menurut Soesanto (1992)³⁾.

TVC (Total Viable Cell)

Sesudah digoyang, selama 3 hari kultur bakteri yang berada pada masing-masing media, dibuat pengenceran 10^{-1} - 10^{-10} dalam aquadest. Dari masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml ditaburkan ke dalam plat dan ditambahkan agar nutrien. Diinkubasikan selama 48 jam, suhu 30°C. Sesudah itu dihitung jumlah sel bakteri yang tumbuh di plat.

TVSC (Total Viable Spore Count)

Untuk memperoleh jumlah spora, maka kultur bakteri yang berada pada masing-masing media dibuat pengenceran 10^{-1} - 10^{-10} dalam aquadest, kemudian dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit. Dari masing-masing pengenceran

diambil 0,1 ml dan ditaburkan ke dalam plat dan ditambahkan dengan agar nutrien, diinkubasikan selama 48 jam, suhu 30°C. Sesudah itu dihitung jumlah spora (TVSC) *B. thuringiensis* H-14 yang tumbuh di plat.

Uji Toksisitas (Bioassay Test)

Kultur bakteri yang berada dalam ke 3 media (air kelapa, air rendaman kedelai dan TPB), masing-masing dimasukkan ke dalam tabung sentrifus steril. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatant dibuang hingga yang tertinggal adalah pelet. Pelet ini yang selanjutnya ditambah 9 ml aquadest sehingga merupakan campuran atau suspensi pekat. Dari masing-masing suspensi ini dibuat seri pengenceran 10^{-1} - 10^{-10} dalam aquadest. Kemudian ditambahkan 20 jentik *Ae. aegypti* instar III ke dalam masing-masing pengenceran, dan diinkubasikan pada suhu kamar. Pengamatan kematian jentik dilakukan pada 24 dan 48 jam pengujian untuk memperoleh LC₅₀. Uji toksisitas terhadap jentik nyamuk *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* dilakukan dengan cara yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah sel (TVC) dan jumlah spora (TVSC) strain lokal *B. thuringiensis* H-14 yang diperoleh setelah ditumbuhkan pada media air kelapa dan air rendaman kedelai serta uji toksisitas bakteri tersebut terhadap jentik nyamuk *Ae. aegypti*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah sel (TVC) dan jumlah spora (TVSC) strain lokal *B. thuringiensis* varietas *israelensis* dari berbagai konsentrasi media dan uji daya bunuhnya terhadap berbagai jentik nyamuk vektor.

Media	Total Viable Cell ¹	Total Viable Spore Cuont ²	Lethal Concentration 50 ³					
			24 jam			48 jam		
			<i>Ae. aegypti</i>	<i>An. aconitus</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>An. aconitus</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>
Air kelapa	10,5 x 10 ⁸	11,4 x 10 ⁵	13 x 10 ⁻⁵	31 x 10 ⁻⁵	7 x 10 ⁻⁵	13 x 10 ⁻⁵	9 x 10 ⁻⁵	7 x 10 ⁻⁵
Infus kedelai	9,2 x 10 ⁷	5,2 x 10 ⁸	5 x 10 ⁻⁵	7 x 10 ⁻⁵	4 x 10 ⁻⁵	3 x 10 ⁻⁵	5 x 10 ⁻⁵	3 x 10 ⁻⁵
Standar TPB	3,1 x 10 ⁵	11,8 x 10 ⁵	12 x 10 ⁻⁵	15 x 10 ⁻⁵	3 x 10 ⁻⁵	12 x 10 ⁻⁵	15 x 10 ⁻⁵	2 x 10 ⁻⁵

1 = Jumlah sel/ml

2 = Jumlah spora/ml

3 = Kematian 50% jentik nyamuk *Ae. aegypti*, *An. aconitus* & *Cx. quinquefasciatus* pada berbagai pencernaan.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa jumlah sel dan jumlah spora strain lokal *B. thuringiensis* H-14 pada medium air kelapa masing-masing sebesar $10,5 \times 10^8$ sel/ml dan $11,4 \times 10^8$ spora/ml serta dapat membunuh 50% (LC_{50}) jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* berturut-turut pada pengenceran 13×10^{-5} , 31×10^{-5} dan 7×10^{-5} pada 24 jam pengujian serta 13×10^{-5} , 9×10^{-5} dan 7×10^{-5} selama 48 jam pengujian. Jumlah sel dan spora *B. thuringiensis* H-14 yang diperoleh dari air rendaman kedelai sebesar $9,2 \times 10^7$ sel/ml dan $5,2 \times 10^8$ spora/ml. LC_{50} jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing pada pengenceran 5×10^{-5} , 7×10^{-5} dan 4×10^{-5} pada 24 jam pengujian dan 3×10^{-5} , 5×10^{-5} dan 3×10^{-5} selama 48 jam pengujian. Pada media TPB (media standar) jumlah sel dan jumlah spora masing-masing sebesar $3,1 \times 10^5$ sel/ml dan $11,8 \times 10^5$ spora/ml dengan LC_{50} jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing pada pengenceran 12×10^{-5} , 15×10^{-5} dan 3×10^{-5} pada 24 jam pengujian dan 12×10^{-5} , 15×10^{-5} dan 2×10^{-5} selama 48 jam pengujian. Terdapat perbedaan jumlah sel dan jumlah spora pada ke 3 media, namun hal ini tidak mempengaruhi toksisitas (*bioassay test*) dari bakteri tersebut dalam menentukan aktivitas larvasidanya. Hal ini pula didukung oleh Bulla dkk (1985), yang menyatakan bahwa hasil pengujian toksisitas lebih penting untuk menentukan aktivitas larvasidanya⁵⁾. Pada Tabel 1 terlihat pula strain lokal yang ditumbuhkan dalam media air kelapa, air rendaman kedelai dan TPB, ternyata tidak dibutuhkan konsentrasi yang sama untuk membunuh 50% jentik *Ae. aegypti*. Hal ini

mungkin disebabkan oleh reaksi patogenisitas yang berbeda di dalam usus tengah larva. Konsentrasi strain lokal *B. thuringiensis* H-14 yang dibutuhkan untuk membunuh jentik *Ae. aegypti* pada pengamatan 48 jam pada media lokal dan media pembanding lebih kecil daripada pengamatan 24 jam. Hal ini berarti bakteri tersebut masih efektif selama 48 jam.

Asam amino dan karbohidrat merupakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan *B. thuringiensis* H-14. Air kelapa kaya akan asam amino dan karbohidrat serta mengandung asam glutamik yang tinggi⁴⁾. Nickerson dan Bulla (1975) menyatakan bahwa asam glutamik atau methionine dalam jumlah tinggi dapat merangsang pertumbuhan bakteri dalam jumlah yang banyak⁶⁾. Air rendaman kedelai hanya sedikit mengandung sumber carbon (komunikasi pribadi dengan Lina, mahasiswa UKSW). Oleh karena itu pada media tersebut diberi glukosa sebesar 2 gram, sebagai sumber carbon⁷⁾. Selain itu kacang kedelai mengandung asam amino yang cukup misalnya leusin dan lisin yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri⁸⁾.

Efektivitas strain *B. thuringiensis* H-14 dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Berbagai faktor tersebut adalah instar jentik, makanan, periode paparan (*expose period*), kualitas air, strain bakteri, suhu air dan formulasi *B. thuringiensis* H-14 khususnya tingkat sedimentasi/pengendapannya^{9,10)}. Di samping itu efektivitas larvasida bakteri juga dipengaruhi oleh adanya toksin di daerah makan jentik dan perilaku makan dari jentik nyamuk sasaran¹¹⁾. Jentik *Ae.*

aegypti mempunyai kebiasaan mengambil makanan di dasar dan dinding penampungan air (*bottom feeders*), *Cx. quinquefasciatus* mengambil makanan di bawah permukaan air dan *An. aconitus* yang kebiasaan mengambil makanan (termasuk toksin) di daerah permukaan (lebih kurang 1-2 mm)¹³.

KESIMPULAN

Strain lokal *B. thuringiensis* H-14 yang ditumbuhkan dalam media air kelapa dan air rendaman kedelai, mampu membunuh 50% jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing pada pengenceran 13×10^{-5} , 31×10^{-5} dan 7×10^{-5} pada 24 jam pengujian dan 13×10^{-5} , 9×10^{-5} dan 7×10^{-5} selama 48 jam pengujian. Demikian pula media standar TPB mampu membunuh 50% *Ae. aegypti*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing pada pengenceran 12×10^{-5} , 15×10^{-5} dan 3×10^{-5} selama 24 jam pengujian dan 12×10^{-5} , 15×10^{-5} dan 2×10^{-5} pada 48 jam pengujian. Strain lokal *B. thuringiensis* H-14 yang ditumbuhkan dalam media lokal air kelapa dan air rendaman kedelai mempunyai potensi sebagai agen bioinsektisida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya penelitian dan penulisan makalah ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Kepala Stasiun Penelitian Vektor Penyakit Salatiga, dan Ketua kelompok Peneliti SPVP yang telah membina penelitian ini, memberikan komentar dan saran dari awal

hingga selesainya makalah ini. Ucapan terima kasih pula kami sampaikan kepada para teknisi Laboratorium Jasad hayati SPVP, atas bantuan yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO (1979). Data Sheet on The Biological Control Agent *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. WHO/VBC/79.50.13p.
2. Blondine CH.P, Umi Widyastuti, Widiarti & Sukarno (1998). Isolasi Bakteri Patogen dan Inventarisasi Parasit serta Predator Jentik Nyamuk. Laporan akhir Penelitian Rutin (1997/1998).
3. Soesanto (1992). Initial Study of Production of *Bacillus thuringiensis israelensis* using Locally Obtained Substrates. *Berkala Ilmu Kedokteran*. 24.3.
4. Chicott, CN & Pillai, J.S. (1985). The use of coconut wastes for the production of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*. *Mircen Journal*, 1985, 1.327-332.
5. Bulla, LA, Jr : Faust, RM : Wabiko, H & Raymond, KC (1985). Insecticidal bacilli in D.A. Dubanau (ed) : *The Molecular Biology of the Bacilli*. Academic Press. Inc, London. pp.186-210
6. Nickerson, KW & Bulla, LA, Jr. (1975). Lipid Metabolism During Bacterial Growth Sporulation and Germination : an Obligate Nutritional Requirement in *Bacillus thuringiensis* for Compounds that Stimulate Fatty Acid Synthesis. *Journal of Bacteriology*. 123,598-603
7. Ruri Sri Hartini (1997). Pengaruh Glukosa Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Pigmen oleh *Monascus Purpureus* UKSW 40 Pada Medium Air Rendaman Kedelai. 20h Fakultas Biologi UKSW Salatiga.
8. Koswara, S. (1992). Tehnologi Pengelolaan Kedelai Menjadi Makanan Bermutu. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta
9. Milan, L.C & Mulla, MS. (1983). Factor Influencing Activity of The Microbial agent *B. sphaericus* Against Mosquito Larvae. *Bull. Cos. Vector. Ecol.* 8(2);128-34.
10. Becker, N. & Margalit, J. (1992). Control of Diptera with *B. thuringiensis israelensis* Training in *Tropical Diseases*, Jenewa.

11. Mulla, M.S.: Darwazeh, HA. & Aly, C. (1986). Laboratory and Field Studies on New Formulations of Two Microbial Control Agents Against Mosquitoes. *Bull. Soc. Vector. Ecol.* 1(2): 255-63.
12. Becker, N : Djakaria, S: Kaiser, A: Zulhasril,O & Ludwig, HW. (1991). Efficacy of a New Tablet Formulation of an Asporogenous Strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* Against Larvae of *Aedes aegypti*. *Bull.Soc. Vector. Ecol.* 16(1): 1-7.